



Interesse dos aminoácidos de cadeia ramificada na prática desportiva

Branched chain amino acids' interest in sports

Helena Barbosa Trigueiro da Rocha

Orientado por: Dr. Sérgio Teixeira

Coorientado por: Prof. Doutor Pedro Graça

Revisão Temática

1.º Ciclo em Ciências da Nutrição

Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto

Porto, 2017

"O homem alimenta-se de comida e imaginário; é transomnívoro."

Emílio Peres

Índice

Lista de Abreviaturas.....	iii
Resumo e Palavras-Chave.....	iv
Abstract and Key Words.....	v
Introdução.....	1
Aminoácidos de Cadeia Ramificada – uma visão metabólica.....	3
Aminoácidos de Cadeia Ramificada e diminuição da Fadiga Central.....	4
Aminoácidos de Cadeia Ramificada e Rendimento Desportivo.....	8
Aminoácidos de Cadeia Ramificada e Recuperação Muscular.....	9
Aminoácidos de Cadeia Ramificada e Hipertrofia Muscular.....	12
Análise Crítica e Conclusões.....	14
Referências Bibliográficas.....	16

Lista de Abreviaturas

BCAAs – Aminoácidos de Cadeira Ramificada

AA – Aminoácidos

MPS – Síntese Proteica Muscular

MPB – Catabolismo Proteico Muscular

mTOR - *Mammalian target of rapamycin*

BCAT – Aminotransferase de aminoácidos de cadeia ramificada

BCKDH - Desidrogenase dos alfa-cetoácidos de cadeia ramificada

p70S6k - Cínase ribossomal S6 de 70 kDA

4E-BP1 - Proteína 1 ligante do fator de iniciação eucariótico 4E

eIF4G - Fator de iniciação eucariótico 4G

DL50 – Dose Letal

TRP – Triptofano

5-HT – 5-hidroxitriptamina

AGL – Ácidos Gordos Livres

BHE – Barreira Hematoencefálica

Arg - Arginina

DOMS - *Delayed Onset Muscle Soreness*

HMB - β -hidroxi- β -metilbutirato

TF – Treino de Força

Resumo

Entre os nove aminoácidos considerados essenciais encontram-se três aminoácidos de cadeia ramificada (BCAAs): leucina, valina e isoleucina.

Os BCAAs na sua forma livre têm sido referenciados como potenciais beneficiadores da prática desportiva, nomeadamente na fadiga central, no grau de lesão muscular, performance desportiva e hipertrofia muscular. Em 2010, na sequência de um pedido da Comissão Europeia, o Painel de Produtos Dietéticos, Nutrição e Alergias da *European Food Safety Authority* forneceu uma opinião científica sobre uma lista de alegações de saúde relacionadas com os BCAAs, baseada na evidência existente até à data, negando relações causa-efeito entre o consumo de BCAAs e as alegações em causa. Os estudos mais recentes também não demonstram um elevado interesse da suplementação com BCAAs na prática desportiva, sendo os seus efeitos menos expressivos e mais específicos comparativamente aquilo que são publicitados.

Esta monografia aborda um tema controverso, com estudos possuidores de metodologias heterogêneas e resultados incompatíveis, consciente das limitações na transposição para o Homem da investigação em modelos animais.

Este trabalho traduz uma revisão da literatura, identificando trabalhos publicados desde 1984 até 2017 relativos à utilização dos BCAAs na prática desportiva, procurando esclarecer se a sua utilização se justifica.

Palavras-chave: aminoácidos de cadeia ramificada; desporto; fadiga central; recuperação muscular; síntese proteica.

Abstract

Among the nine amino acids considered essential there are three branched-chain amino acids (BCAAs): leucine, valine and isoleucine. BCAAs in their free form have been referenced as potential beneficiaries of sports practice, namely in central fatigue, muscle injury, sports performance and muscular hypertrophy.

In 2010, following a request from the European Commission, the European Food Safety Authority's Dietetic Products, Nutrition and Allergies Panel provided a scientific opinion on a list of health claims related to BCAAs based on the evidence to date. They denied a cause-effect relationship between the consumption of BCAAs and the allegations in question. The most recent studies also do not demonstrate a high interest in BCAA supplementation in sports, as its effects are less expressive and more specific compared to what is advertised.

This document deals with a controversial subject, with studies possessing heterogeneous methodologies, incompatible results and limitations in the transposition of animal research for humans.

This work reflects a review of the literature, identifying papers published from 1984 to 2017 regarding the use of BCAAs in sports, trying to clarify if their use is justified.

Key Words: branched chain amino acids; sports; central fatigue; muscle soreness; protein synthesis.

Introdução

Uma nutrição adequada é um determinante crítico da performance desportiva^(1, 2). David Costill afirmou em 1988 que “com exceção da melhoria física associado ao treino e dos limites impostos pela hereditariedade, nenhum fator tem um papel tão preponderante na performance como a nutrição”⁽³⁾. Apesar de por si só não conseguir transformar um atleta pouco dotado num atleta exímio, é um fator que pode claramente fazer a diferença entre uma vitória e uma derrota⁽²⁾.

Os hábitos alimentares de um atleta afetam a sua composição corporal, a sua saúde, a disponibilidade e a utilização de substrato durante o exercício, a sua recuperação e a performance desportiva. Os desportistas conseguem satisfazer todas as necessidades nutricionais através de uma alimentação equilibrada, variada e energeticamente adequada, apesar dos seus requisitos serem diferentes da população geral⁽⁴⁾. No entanto, verifica-se em atletas um elevado uso de suplementos alimentares^(5, 6). De um estudo realizado em 292 atletas de elite portugueses, 66% consumiam suplementos alimentares. Desses, cada um consumia em média 4 tipos diferentes⁽⁶⁾. Segundo o Decreto-Lei n.º 118/2015, por definição, suplementos alimentares são os géneros alimentícios que se destinam a complementar e ou suplementar o regime alimentar normal e que constituem fontes concentradas de determinadas substâncias nutrientes ou outras com efeito nutricional ou fisiológico, estemes ou combinadas, comercializadas em forma doseada⁽⁷⁾. São tidos como promotores de adaptações ao treino, recuperação entre treinos, preventores de lesão e melhoradores da performance⁽¹⁾.

Num estudo sobre o consumo de suplementos alimentares em atletas de diversas Seleções Nacionais Masculinas Portuguesas, apurou-se que dos atletas consumidores de suplementos nutricionais, 23% consumiam aminoácidos de

cadeia ramificada (BCAAs)⁽⁵⁾. Os BCAAs são três aminoácidos (AA) essenciais com uma cadeia lateral alifática ramificada: leucina, valina e isoleucina. São denominados essenciais uma vez que o organismo não possui as enzimas necessárias à sua síntese⁽⁸⁾. Para substituir cada molécula catabolizada, é necessário que esta seja ingerida. Os BCAAs representam 35% dos AA utilizados na síntese proteica muscular (MPS) e 40% dos AA indispensáveis para os mamíferos⁽⁹⁾. Vários atletas e praticantes de *fitness* consomem suplementos de proteína e aminoácidos de forma a manter a disponibilidade dos AA essenciais e estimular a preservação de massa magra, garantindo a performance muscular funcional e atlética. Durante e após o exercício, o *turnover* proteico aumenta, assim como as necessidades proteicas do indivíduo⁽¹⁰⁾.

O uso de BCAAs está bem documentado, no geral são uma fonte energética durante exercício intenso e a sua administração em conjunto com exercício de resistência tem efeitos positivos na MPS⁽¹¹⁻¹³⁾. Estes AA parecem atrasar a fadiga central e promover a recuperação muscular após o exercício, alegadamente permitindo aos atletas treinar mais tempo e mais intensamente^(12, 14-17). Em 2010 a EFSA lançou um documento defendendo que não há evidência científica satisfatória que sustente as alegações relacionadas com BCAAs na saúde e na prática desportiva⁽¹⁸⁾.

O objetivo deste trabalho é debater e questionar o interesse da suplementação com BCAAs na prática desportiva, na diminuição da fadiga central, prevenção de complicações musculares, hipertrofia e melhoria da performance.

Aminoácidos de Cadeia Ramificada – uma visão metabólica.

Ao contrário dos restantes aminoácidos, que são oxidados primariamente no tecido hepático, o sistema enzimático para a oxidação dos BCAAs encontra-se no tecido muscular^(8, 9). Toda a via catabólica dos BCAAs ocorre na mitocôndria e inicia-se com duas reações comuns aos três BCAAs. A primeira é a sua transaminação reversível através da transferase dos BCAAs (BCAT), na qual o aminoácido doa o grupo amina ao α -cetoglutarato, formando o α -cetoácido correspondente e glutamato. O glutamato é substrato essencial à formação de outros aminoácidos, como a glutamina e a alanina⁽⁸⁾. Com a ação da BCAT, o α -cetoisocaproato forma-se a partir da leucina, o α -ceto- β -metilvalerato a partir da isoleucina, e o α -cetoisovalerato derivado da valina⁽⁹⁾.

Posteriormente, ocorre a descarboxilação irreversível dos α -cetoácidos pelo complexo da desidrogenase dos α -cetoácidos de cadeia ramificada (BCKDH) para formar compostos de Acil-CoA. Do α -cetoisocaproato forma-se o isovaleril-CoA, do α -ceto- β -metilvalerato é sintetizado o 2-metilbutiril-CoA, e do α -cetoisovalerato deriva o isobutiril-CoA. Esta reação ocorre se a fosfatase da BCKDH ativar o complexo, através da sua desfosforilação^(19, 20). O fígado participa indiretamente na oxidação dos BCAAs, uma vez que a BCKDH apresenta uma grande atividade ao nível do tecido hepático, e baixa atividade no tecido muscular⁽²¹⁾.

O terceiro passo da oxidação dos BCAAs é distinto para cada AA: o isovaleril-CoA é convertido em acetoacetato e acetil-CoA, o isobutiril-CoA é convertido em succinil-CoA (intermediário do Ciclo de Krebs) e o 2-metilbutiril-CoA é convertido em acetil-CoA e succinil-CoA. Pelos substratos que cada AA origina podemos considerar a leucina uma substância cetogénica, a valina uma substância glicogénica e a isoleucina simultaneamente cetogénica e glicogénica^(8, 22). Esta

última reação é o passo limitante do catabolismo dos BCAAs, daí a sua regulação precisa^(8, 19). Os metabolitos daqui resultantes exercem um papel fulcral em reações do ciclo de Krebs e na gliconeogénese, aumentando a produção de adenosina trifosfato (ATP) durante o exercício^(8, 9). A leucina pode seguir um destino metabólico distinto no fígado, no qual a enzima citosólica α -KIC dioxigenase gera o β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB)⁽²³⁾.

A toxicidade aguda e crónica dos BCAAs foi estudada em ratos. Nenhum animal morreu após uma exposição aguda à dose 10 g de BCAAs/Kg de massa corporal. A Dose Letal (DL50) foi estimada como superior a 10 g/Kg de massa corporal. Quanto à toxicidade crónica, tanto numa dose de 2,5 g/Kg/dia durante 3 meses, como com 1,25 g/Kg/dia durante 1 ano, não foram observados efeitos tóxicos derivados da exposição a BCAAs⁽²⁴⁾.

Aminoácidos de Cadeia Ramificada e diminuição da Fadiga Central.

No contexto desportivo, a fadiga traduz-se pela incapacidade um atleta manter os níveis de intensidade e performance constantes no decorrer da atividade desportiva⁽²⁵⁾. A fadiga divide-se em dois tipos, de acordo com a origem dos mecanismos que promovem a sensação: central e periférica. A fadiga periférica pode ser controlável e já foram identificados fatores etiológicos, como a depleção muscular de glicogénio ou de fosfocreatina, a falha na transmissão neuromuscular e alterações no ciclo das pontes cruzadas de miosina e actina nas fibras musculares⁽²⁶⁾. Quanto à fadiga central, os fatores etiológicos não foram ainda esclarecidos, embora tenham sido propostas algumas teorias como um aumento de

componentes no músculo durante a prática de exercício (como prótons), hipoglicemia ou aumento na concentração de triptofano (TRP) sanguíneo⁽²⁶⁾.

Exercícios de elevada intensidade e longa duração exigem a utilização de diferentes substratos energéticos⁽²⁷⁾. Quando se dá a depleção de glicogénio, a lipólise e os BCAAs passam a ser fontes energéticas muito utilizadas pelos tecidos, diminuindo a concentração plasmática de BCAAs e aumentando a concentração plasmática de ácidos gordos livres (AGL)^(28, 29). O TRP e os AGL utilizam o mesmo local de ligação à albumina, pelo que o aumento dos AGL impossibilita a ligação de TRP à albumina, aumentando o TRP livre⁽³⁰⁾. O aumento do TRP livre leva a um maior *uptake* na barreira hemato-encefálica (BHE) e uma maior produção de 5-HT (5-hidroxitriptamina) catalisada pela hidrólase do TRP, culminando na sensação de fadiga^(26, 31-33). Contudo, alguns investigadores defendem que o local de ligação do triptofano à albumina não é relevante para a captação do triptofano no cérebro^(34, 35). Newsholme foi o primeiro a associar a fadiga a um aumento da atividade serotoninérgica, dado que a 5-HT é um neurotransmissor responsável por sensações como a letargia, o cansaço e o controlo do sono^(26, 28). Na BHE, o TRP e os BCAAs competem pelo mesmo transportador. Em animais, a suplementação com BCAAs leva à saturação do transportador, diminuindo a 5-HT cerebral, a sensação de fadiga e aumentando o tempo até à exaustão⁽³⁶⁾. Este é o princípio pelo qual se começaram a utilizar os BCAAs para diminuir a fadiga central.

Blomstrand *et al.* investigaram o efeito da ingestão oral de BCAAs (90 mg/Kg) na perceção do esforço e fadiga mental durante 60 minutos de exercícios num ergómetro. O grupo suplementado obteve menos 7% de perceção de esforço e menos 15% do nível de fadiga mental em relação ao grupo placebo⁽¹⁵⁾. Não obstante, este estudo apresenta limitações, pela amostra reduzida, pela diferença

do valor calórico das bebidas (controlo e BCAAs), e pela diferença na ingestão energética dos dois grupos.

Não foi comprovado nenhum efeito benéfico significativo da ingestão oral de uma solução de hidratos de carbono (HC) com TRP ou HC + BCAAs, no tempo até à exaustão num estudo laboratorial controlado. Os autores levantam duas hipóteses: a ingestão destes AA não altera a concentração de 5-HT em zonas cerebrais relevantes, ou a alteração serotoninérgica durante o exercício prolongado não contribui muito para o mecanismo de fadiga e exaustão⁽³⁷⁾. Durante uma corrida de *cross-country* de 30 km, foi administrada uma mistura de BCAAs + HC ou uma bebida placebo (só HC) a dois grupos. Realizaram-se dois testes para medir o desempenho cognitivo antes da corrida, e dois testes no fim. O grupo placebo teve uma diminuição média nos resultados de 15% e 25% nos testes realizados depois da prova. O grupo suplementado não obteve diferenças significativas nos resultados dos testes depois da prova em relação aos resultados antes do *cross-country* de 30 km, suportando o alegado efeito dos BCAAs na fadiga central ⁽³⁸⁾.

Alguns dados sugerem que a oxidação de BCAAs para obtenção de energia e a desaminação dos nucleótidos das purinas durante o exercício, são fatores causadores de hiperamonemia⁽³⁹⁾. Nybo *et al.* demonstraram que elevados níveis de amónia sistémica durante exercício de endurance conduzem ao aumento da captação de amónia na BHE em indivíduos treinados⁽⁴⁰⁾. Alguns cientistas consideram os BCAAs ineficazes na redução da fadiga central devido à acumulação de amónia no sistema nervoso central durante o exercício⁽⁴¹⁻⁴³⁾. Para contrariar esse efeito, foi estudado em atletas de Andebol, o efeito da suplementação de BCAAs (0,17 g/Kg) + Arginina (Arg) (0,04 g/Kg) em dois dias

consecutivos de jogos. A Arg é um aminoácido essencial cujo efeito vasodilatador e catalisador do ciclo da ureia poderá reduzir a hiperamonemia desenvolvida no exercício^(41, 44). O grupo suplementado apresentou melhor performance física e mais tempo até à exaustão em relação ao grupo placebo. Contudo, os níveis de amónia plasmáticos e cerebrais foram semelhantes nos dois grupos. Os efeitos da suplementação de BCAAs em combinação com Arg parecem ser eficazes no segundo dia consecutivo de exercício intermitente, quando a fadiga é maior⁽⁴¹⁾.

Um estudo experimental duplamente cego testou os efeitos da suplementação de BCAAs antes de um treino de *cycling*, em marcadores associados à fadiga, como a 5-HT e amónia. O grupo exposto a BCAAs verificou menores níveis de 5-HT do que o grupo placebo antes do exercício, durante e na recuperação. Os níveis de amónia no grupo exposto foram superiores nos períodos pré-exercício e durante, mas diminuíram na recuperação do exercício⁽⁴⁵⁾. Os mesmos autores em 2016 decidiram estudar o efeito da suplementação de BCAAs (0,17 g/Kg) com Arginina (0,05 g/Kg) e Citrulina (0,05 g/Kg) na diminuição de fadiga e performance desportiva em corredores, em duas provas em dois dias consecutivos. O grupo suplementado obteve uma concentração de amónia plasmática inferior e melhores resultados em ambas as provas. Os autores associaram estes resultados à diminuição da fadiga central⁽⁴⁶⁾.

A combinação de BCAAs com aspartato de ornitina não tem impacto significativo na concentração de amónia nem na percepção de esforço. Contudo, parece ter melhorias no desempenho cognitivo no fim do exercício, melhorando igualmente o retorno aos valores em repouso ⁽⁴⁷⁾.

Apesar do número reduzido de estudos existentes, os BCAAs parecem ter um papel promissor na diminuição da fadiga, principalmente quando combinados com Arg.

Aminoácidos de Cadeia Ramificada e Rendimento Desportivo

Num estudo com atletas portugueses, o principal motivo associado à toma de BCAAs foi “Melhorar o desempenho desportivo”⁽⁵⁾. No entanto, o efeito benéfico dos BCAAs no rendimento do atleta não é de todo consensual. Blomstrand *et al.* estudaram pela primeira vez o efeito de 16 g de BCAAs em 193 maratonistas do sexo masculino. Os autores descreveram uma ligeira melhoria no rendimento em corredores “menos rápidos”, e nenhum efeito significativo no rendimento dos corredores “mais rápidos”. Este estudo não foi muito impactante e podemos apontar dois fatores indutores de viés: a ingestão alimentar dos indivíduos foi *ad libitum* e a divisão em dois grupos (mais e menos rápidos) foi com base nos resultados de uma maratona arbitrária. Para além disso, não se compararam os resultados dos atletas que haviam tomados BCAAs com os resultados de provas prévias⁽⁴⁸⁾. A suplementação de 20 g de BCAAs antes e durante um desporto de *endurance* extremo (ultra-maratona de 100 Km) mostrou-se incapaz de induzir melhorias da performance⁽⁴⁹⁾. Já suplementação combinada de BCAAs (0.17 g/Kg), Arg (0,05 g/Kg) e Citrulina (0.05 g/Kg) parece melhorar a performance em provas de 5000 m e 10000 m de corrida, em dois dias consecutivos⁽⁴⁶⁾. A partir de um estudo com Andebolistas percebemos que, quando combinados com Arg (0.04 g/kg), 0.17 g/kg de BCAA podem ter um efeito indireto na performance por diminuição da fadiga central neste desporto intermitente, em dois dias consecutivos⁽⁴¹⁾.

Um estudo realizado em 2017, suplementou jogadores de futebol com 26,7 g de HC + 5 g BCAAs, em 5 dias diferentes com 11 *sprints* realizados em cada dia. Não se observou nenhuma diferença significativa na performance entre o grupo suplementado e o grupo placebo (que recebeu 26,7 g de HC)⁽⁵⁰⁾. Esta suplementação assentou no pressuposto e que os BCAAs contribuiriam como fonte energética e maximizariam o rendimento desportivo ⁽¹¹⁾. Em situações de exercício prolongado em condições de baixa disponibilidade de glicogénio, a ingestão de BCAAs antes e durante não promove alterações no rendimento desportivo, ao contrário do que havia previamente sido sugerido num outro estudo^(42, 51).

Também estudos realizados com indivíduos a exercitar intensamente num ergómetro, não obtiveram alterações na performance em *time-trial*, nem no tempo até à exaustão, em comparação com os grupos placebo^(37, 52). Um outro estudo realizado com 9 ciclistas suplementou os atletas com 24,3 g de BCAAs antes de 90 minutos de exercício. Não se verificaram melhorias nos atletas suplementados⁽⁵³⁾.

Aminoácidos de Cadeia Ramificada e Recuperação Muscular

O exercício intenso ou com estímulo superior ao habitual pode levar ao aumento do dano muscular induzido pelo exercício^(54, 55). Como consequência ocorre a *Delayed Onset Muscle Soreness* (DOMS), síndrome que ocorre 24-48 horas após a prática de exercício físico, relacionada com lesão das fibras musculares e/ou trauma do tecido conjuntivo, acompanhada de rigidez e dor ⁽⁴⁷⁾.

O dano muscular é caracterizado como uma disrupção da membrana pelo *stress* mecânico, infiltração de células inflamatórias no tecido lesado e uma produção aumentada de citocinas inflamatórias⁽⁵⁶⁾. Durante o exercício, proteínas enzimáticas como a cínase da creatina, desidrogenase do lactato ou mioglobina,

podem ser libertadas de células musculares para o soro plasmático, daí serem usadas na maioria dos estudos como marcadores quantitativos de dano celular^(57, 58). Esta complexa interação de eventos parece ser bifásica: o dano primário ocorre durante o exercício e envolve alterações metabólicas e mecânicas; e o dano secundário relaciona-se com a resposta inflamatória após a elevada tensão mecânica do exercício^(54, 59). A elevada frequência de treino de um atleta impõe a necessidade de uma recuperação muscular rápida, de forma a potenciar o seu rendimento desportivo, maximizar o programa de treino e responder mais positivamente à agressão muscular^(14, 60). A suplementação em aminoácidos com elevado teor em BCAAs, promove um perfil hormonal anabólico, enquanto atenua o dano no tecido muscular induzido pelo treino, e diminui o risco de lesão⁽⁶¹⁾.

Foram avaliados os efeitos na DOMS de uma mistura de aminoácidos enriquecidos em BCAAs (60%) 4 dias após exercício de *endurance*. O grupo suplementado apresentou valores diminuídos da cínase da creatina, mioglobina e menos dor muscular que o grupo placebo.⁽⁶²⁾

Jackman *et al.* demonstraram que a suplementação de 29,2 g/dia de BCAAs após exercício excêntrico intenso, não conseguiu prevenir a perda de função muscular, nem o aumento de marcadores sanguíneos de dano muscular em indivíduos não treinados. Contudo, a DOMS foi 64% inferior no grupo suplementado, em relação ao grupo placebo⁽⁶³⁾. Jogadores de rãguebi ou futebol da Liga Nacional Inglesa participaram num outro estudo de Howatson e colaboradores. Administraram-se 20 g BCAAs/dia, 7 dias antes do exercício extenuante, e no dia de exercício tomaram 20 g no pré-treino e 20 g imediatamente após. Verificou-se atenuação da perda de função muscular, da dor, do nível de

enzimas intramusculares e maior rapidez na recuperação ⁽¹³⁾. Enquanto no estudo de Jackman *et al.*, nas 72 h seguintes ao exercício 60% dos indivíduos não treinados tinham recuperado a contração voluntária máxima, pela mesma altura neste estudo, 90% já havia recuperado.

A razão habitualmente apresentada para justificar esta diferença é o facto de Howatson *et al.* terem utilizado atletas treinados e Jackman *et al.* não. Todavia, importa reconhecer que a quantidade de BCAAs fornecida, e o protocolo de distribuição ao longo dos dias, foi muito diferente. Jackman *et al.* administraram os BCAAs 1 hora após o final do exercício, Howatson *et al.* imediatamente após o exercício. Sabendo que concentração de BCAAs aumenta no sangue 15 minutos após a ingestão e atinge o pico aos 30 minutos, percebemos que a biodisponibilidade de BCAAs no trabalho de Howatson *et al.* ocorreu pelo menos 1 hora mais cedo do que no de Jackman *et al.*, o que pode também ter influenciado os resultados obtidos^(14, 63, 64).

Quanto ao eventual benefício da suplementação com BCAAs no treino de força (TF), os BCAAs administrados agudamente antes e após TF intensivo atenuaram a diminuição na capacidade de produção de energia em indivíduos treinados⁽⁶⁵⁾. Em 2017, foi demonstrado que após um TF, a suplementação aguda com BCAAs (0.087 g/kg) foi suficiente para aumentar a taxa de recuperação da força isométrica de atletas treinados⁽⁶⁶⁾. A suplementação de BCAAs (100 mg/kg) antes e imediatamente após exercícios de agachamento diminuiu a DOMS poucos dias após o exercício⁽⁶⁷⁾.

Num outro estudo, a suplementação com BCAAs durante um programa de treino intensivo reduziu efetivamente a DOMS e a percepção de fadiga. As alterações no desempenho foram atribuídas à atenuação do dano muscular e inflamação⁽⁶⁸⁾.

Curiosamente, em alguns estudos o efeito da suplementação com BCAAs parece ser influenciado pelo sexo, com resultados estatisticamente significativos em mulheres, ao contrário dos indivíduos do sexo masculino. A razão para esta diferença não é clara, embora a diferença na massa e composição corporal de homens e mulheres possa explicar que a mesma dose para ambos os sexos não seja suficiente em relação à massa corporal dos homens estudados⁽⁶⁹⁻⁷¹⁾.

Os efeitos aparentemente pequenos, mas significativos, sugerem que os BCAAs podem ser uma ajuda efetiva para os atletas no período de recuperação após o exercício.

Aminoácidos de Cadeia Ramificada e Hipertrofia Muscular

Para promover o ganho de massa muscular, é necessário criar um balanço azotado positivo, garantindo que a síntese proteica (MPS) é superior ao catabolismo proteico (MPB). Isto ocorre principalmente devido a uma elevação da MPS pós-prandial, mas também de uma diminuição da MPB^(72, 73). Os efeitos dos BCAAs no metabolismo proteico parecem ser mediados tanto pela MPS como pelo catabolismo proteico muscular (MPB).⁽⁷⁴⁻⁷⁶⁾ A síntese proteica pode ser estimulada pelo exercício de força em combinação com ingestão proteica, e ambos os fatores medeiam este efeito pela ativação do complexo 1 do mTOR ^(13, 77). Um aporte nutricional adequado é crucial para a manutenção da massa muscular.

Estudos com a infusão de misturas de AA confirmaram em 1989, o papel crucial dos AAE, como principais motores da MPS estimulada nutricionalmente⁽⁷⁸⁾. A literatura aponta para que a estimulação da MPS por uma mistura de aminoácidos se deva aos AAE presentes na mistura, principalmente à leucina, que exerce os

seus efeitos anabólicos após a transcrição, habitualmente durante a fase de iniciação da tradução do RNA-mensageiro ^(13, 79-81). O aumento da concentração intracelular da leucina promove a fosforilação da proteína cínase do mTOR. O mTOR estimula principalmente a síntese proteica através de três proteínas: a cínase ribossomal S6 de 70 kDa (p70S6k); a proteína 1 ligante do fator de iniciação eucariótico 4E (4E-BP1); e o fator de iniciação eucariótico 4G (eIF4G)⁽⁸²⁻⁸⁴⁾.

Até à data, várias linhas de investigação indicam que a leucina, por si só, consegue estimular a sinalização do mTORC1 e a MPS no músculo-esquelético de animais e humanos^(74, 85-88). Contudo, parece haver um maior estímulo do mTORC1 quando os três BCAAs são consumidos em conjunto^(13, 74, 85). No trabalho de Apro e colaboradores, a ingestão de AAE associada à realização de exercício de resistência, estimulou mais a atividade da p70S6k no músculo-esquelético do que a ingestão de leucina isolada⁽⁸⁹⁾. A presença de valina e isoleucina aumenta a resposta do mTORC1 à leucina, no entanto, a ingestão isolada de BCAAs sem os restantes AAE fornece substrato limitado para a síntese proteica em músculos exercitados^(13, 90). A combinação de treino de resistência com 9 g/dia de BCAAs, tomados 30 minutos antes e após o exercício, não obteve resultados significativos na composição corporal nem no desempenho muscular dos indivíduos⁽⁹¹⁾.

O impacto isolado dos BCAAs na MPS em humanos sem a ingestão concomitante de outros AAE, proteína ou macronutrientes, só foi avaliado num estudo. Os investigadores concluíram que a ingestão de 5,6 g de BCAAs resultou num aumento de 22% da MPS miofibrilar. Foi o primeiro estudo a demonstrar que a supersensibilização da via de sinalização da mTORC1 com a ingestão de BCAAs se traduz numa resposta aumentada da MPS posteriormente ao exercício de força.⁽⁹⁰⁾ Apesar do resultado aparentemente bom, é inferior ao esperado, dado

que com a ingestão de uma dose de proteína de soro do leite (*whey*) (25 g) se consegue um aumento da MPS aproximadamente duas vezes superior^(92, 93). A disponibilidade de AAE é provavelmente o fator-limitante que explica a diferença qualitativa na magnitude da resposta na MPS à ingestão de BCAAs isolada e à ingestão de uma quantidade semelhante de BCAAs como parte de (*whey*)⁽⁹²⁻⁹⁵⁾. Churchward-Venne *et al.* demonstraram que a adição de leucina a uma dose subótima de *whey* (6,25 g) resulta em taxas de MPS semelhantes às após a ingestão de 25 g de *whey* em repouso. Contudo, a adição de leucina a 6,25 g de *whey* não é tão eficaz como uma dose superior de *whey* após exercício de resistência. Este estudo reforça que a leucina isolada não é suficiente para maximizar a estimulação da MPS, mesmo após o exercício de força⁽⁹⁴⁾.

Estes dados sugerem que os BCAAs por si só não serão a melhor escolha se o objetivo for maximizar o estímulo à hipertrofia, uma vez que é necessária a presença de todos os AAE para um aumento máximo da MPS.

Análise Crítica e Conclusões

Popper delimitou a Ciência afirmando que uma teoria, por definição, nunca está correta, apenas pode ser considerada falsa por falta de corroboração. A maioria dos efeitos dos BCAAs na prática desportiva permanecem controversos, contudo importa salientar alguns aspetos aqui debatidos.

A potencial melhoria na fadiga e capacidade cognitiva parece superior em provas desportivas em dias sucessivos, e quando os BCAAs são combinados com Arginina. Apesar do destaque académico dado à leucina na temática da hipertrofia, verifica-se que a presença de todos os BCAAs e restantes AAE é mais importante

na maximização do estímulo da MPS. Posto isto, os BCAAs isolados na hipertrofia podem não ser tão interessantes, contudo, se adicionados a uma dose sub-ótima de uma proteína com aminograma rico em AAE ou uma proteína com menor teor de leucina (p.e. soja) são uma mais-valia na estimulação da MPS. O uso de BCAAs isolados pode ser vantajoso como complemento de uma refeição pobre em AA, como uma possível alternativa para indivíduos com intolerância à *whey*, e talvez em situações de restrição calórica^(96, 97).

Não existe evidência que suporte o presumido efeito dos BCAAs na melhoria da performance desportiva, apesar de ser uma ideia generalizada entre atletas. Alguma melhoria na performance poderá dever-se ao efeito na diminuição da fadiga. Apesar disso, a suplementação com BCAAs parece atenuar a DOMS sentida pelos atletas e promover uma melhor e mais célere recuperação muscular. Nesse sentido, entre 0,03-0,08 g/Kg de BCAAs no pré-treino parecem exercer efeitos positivos.

Algumas considerações poderiam ser tidas em conta no desenho de futuros estudos sobre este tema. A suplementação neste tipo de estudos deveria ser fornecida em g/Kg ou mg/Kg, dado que o efeito dos AA pode variar de acordo com a massa e/ou composição corporal dos participantes. Para além disso, seria mais enriquecedor se o aporte nutricional dos participantes fosse controlado, de forma a prevenir variações na quantidade de BCAAs ingerida. São necessários estudos com metodologias mais claras e homogêneas, que permitam aferir o real interesse dos BCAAs na prática desportiva.

Referências Bibliográficas

1. Maughan RJ, King DS, Lea T. Dietary supplements. *Journal of sports sciences*. 2004; 22(1):95-113.
2. Maughan R. The athlete's diet: nutritional goals and dietary strategies. *The Proceedings of the Nutrition Society*. 2002; 61(1):87-96.
3. Costill DL. Carbohydrates for exercise: dietary demands for optimal performance. *International journal of sports medicine*. 1988; 9(1):1-18.
4. Position of the American Dietetic Association, Dietitians of Canada, and the American College of Sports Medicine: Nutrition and athletic performance. *Journal of the American Dietetic Association*. 2000; 100(12):1543-56.
5. Fernandes M. *Uso de Suplementos Nutricionais por Atletas das Seleções Nacionais Masculinas Portuguesas* Universidade do Porto: Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto; 2009.
6. Sousa M, Fernandes MJ, Moreira P, Teixeira VH. Nutritional supplements usage by Portuguese athletes. *International journal for vitamin and nutrition research Internationale Zeitschrift für Vitamin- und Ernährungsforschung Journal international de vitaminologie et de nutrition*. 2013; 83(1):48-58.
7. Decreto-Lei n.º 118/2015. Série I de 2015-06-23.
8. Murray Robert K. BDK, Botham Kathleen M, Kennelly Peter J, Rodwell Victor W, Weil P Anthony. *Harper's illustrated biochemistry*. Lange. 2012
9. Harper AE, Miller RH, Block KP. Branched-chain amino acid metabolism. *Annual review of nutrition*. 1984; 4:409-54.
10. Evans WJ. Muscle damage: nutritional considerations. *International journal of sport nutrition*. 1991; 1(3):214-24.
11. Blomstrand E. A role for branched-chain amino acids in reducing central fatigue. *The Journal of nutrition*. 2006; 136(2):544s-47s.
12. Pasiakos SM, McClung HL, McClung JP, Margolis LM, Andersen NE, Cloutier GJ, et al. Leucine-enriched essential amino acid supplementation during moderate steady state exercise enhances postexercise muscle protein synthesis. *The American journal of clinical nutrition*. 2011; 94(3):809-18.
13. Moberg M, Apro W, Ekblom B, van Hall G, Holmberg HC, Blomstrand E. Activation of mTORC1 by leucine is potentiated by branched-chain amino acids and even more so by essential amino acids following resistance exercise. *American journal of physiology Cell physiology*. 2016; 310(11):C874-84.
14. Howatson G, Hoad M, Goodall S, Tallent J, Bell PG, French DN. Exercise-induced muscle damage is reduced in resistance-trained males by branched chain amino acids: a randomized, double-blind, placebo controlled study. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. 2012; 9:20.

15. Blomstrand E, Hassmen P, Ek S, Ekblom B, Newsholme EA. Influence of ingesting a solution of branched-chain amino acids on perceived exertion during exercise. *Acta physiologica Scandinavica*. 1997; 159(1):41-9.
16. Blomstrand E, Hassmen P, Newsholme EA. Effect of branched-chain amino acid supplementation on mental performance. *Acta physiologica Scandinavica*. 1991; 143(2):225-6.
17. Pasiakos SM, McLellan TM, Lieberman HR. The effects of protein supplements on muscle mass, strength, and aerobic and anaerobic power in healthy adults: a systematic review. *Sports medicine (Auckland, NZ)*. 2015; 45(1):111-31.
18. Nutrition EPODP, Allergies. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to branched-chain amino acids (BCAA) and growth or maintenance of muscle mass (ID 442, 444, 445, 447, 448, 451, 1478), attenuation of the decline in muscle power following exercise at high altitude (ID 443), faster recovery from muscle fatigue after exercise (ID 447, 448, 684,1478), improvement of cognitive function after exercise (ID 446), reduction in perceived exertion during exercise (ID 450) and “healthy immune system” (ID 449) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal*. 2010; 8(10)
19. Harris RA, Hawes JW, Popov KM, Zhao Y, Shimomura Y, Sato J, et al. Studies on the regulation of the mitochondrial alpha-ketoacid dehydrogenase complexes and their kinases. *Advances in enzyme regulation*. 1997; 37:271-93.
20. Rennie MJ, Tipton KD. Protein and amino acid metabolism during and after exercise and the effects of nutrition. *Annual review of nutrition*. 2000; 20:457-83.
21. Kainulainen H, Hulmi JJ, Kujala UM. Potential role of branched-chain amino acid catabolism in regulating fat oxidation. *Exercise and sport sciences reviews*. 2013; 41(4):194-200.
22. Harris RA, Joshi M, Jeoung NH, Obayashi M. Overview of the molecular and biochemical basis of branched-chain amino acid catabolism. *The Journal of nutrition*. 2005; 135(6 Suppl):1527s-30s.
23. Van Koeveering M, Nissen S. Oxidation of leucine and alpha-ketoisocaproate to beta-hydroxy-beta-methylbutyrate in vivo. *The American journal of physiology*. 1992; 262(1 Pt 1):E27-31.
24. Shimomura Y, Murakami T, Nakai N, Nagasaki M, Harris RA. Exercise promotes BCAA catabolism: effects of BCAA supplementation on skeletal muscle during exercise. *The Journal of nutrition*. 2004; 134(6 Suppl):1583s-87s.
25. Pinheiro JL, Pinheiro, João. Aminoácidos de Cadeia Ramificada e Fadiga Central. *Rev Medicina Desportiva*. 2016; 7(2):15-18.
26. Newsholme EA, Blomstrand E. Branched-chain amino acids and central fatigue. *The Journal of nutrition*. 2006; 136(1 Suppl):274s-6s.
27. Gibala MJ. Protein metabolism and endurance exercise. *Sports medicine (Auckland, NZ)*. 2007; 37(4-5):337-40.

28. Newsholme EA, Blomstrand E, Ekblom B. Physical and mental fatigue: metabolic mechanisms and importance of plasma amino acids. *British medical bulletin*. 1992; 48(3):477-95.
29. Urdampilleta AM-S, José Miguel; Lopez-Grueso, Raúl. . Valoración bioquímica del entrenamiento: herramienta para el dietista-nutricionista deportivo. *Revista Española de Nutrición Humana y Dietética*. 2013; 17(2):73-83.
30. Nybo L, Nielsen B, Blomstrand E, Moller K, Secher N. Neurohumoral responses during prolonged exercise in humans. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md : 1985). 2003; 95(3):1125-31.
31. Blomstrand E, Celsing F, Newsholme EA. Changes in plasma concentrations of aromatic and branched-chain amino acids during sustained exercise in man and their possible role in fatigue. *Acta physiologica Scandinavica*. 1988; 133(1):115-21.
32. Chaouloff F. Effects of acute physical exercise on central serotonergic systems. *Medicine and science in sports and exercise*. 1997; 29(1):58-62.
33. Fernstrom JD. Aromatic amino acids and monoamine synthesis in the central nervous system: influence of the diet. *The Journal of nutritional biochemistry*. 1990; 1(10):508-17.
34. Pardridge WM. Brain metabolism: a perspective from the blood-brain barrier. *Physiological reviews*. 1983; 63(4):1481-535.
35. Fernstrom MH, Fernstrom JD. Large changes in serum free tryptophan levels do not alter brain tryptophan levels: studies in streptozotocin-diabetic rats. *Life sciences*. 1993; 52(11):907-16.
36. Smriga M, Kameishi M, Tanaka T, Kondoh T, Torii K. Preference for a solution of branched-chain amino acids plus glutamine and arginine correlates with free running activity in rats: involvement of serotonergic-dependent processes of lateral hypothalamus. *Nutritional neuroscience*. 2002; 5(3):189-99.
37. van Hall G, Raaymakers JS, Saris WH, Wagenmakers AJ. Ingestion of branched-chain amino acids and tryptophan during sustained exercise in man: failure to affect performance. *The Journal of physiology*. 1995; 486 (Pt 3):789-94.
38. Hassmen P, Blomstrand E, Ekblom B, Newsholme EA. Branched-chain amino acid supplementation during 30-km competitive run: mood and cognitive performance. *Nutrition* (Burbank, Los Angeles County, Calif). 1994; 10(5):405-10.
39. Hellsten Y, Richter EA, Kiens B, Bangsbo J. AMP deamination and purine exchange in human skeletal muscle during and after intense exercise. *The Journal of physiology*. 1999; 520 Pt 3:909-20.
40. Nybo L, Dalsgaard MK, Steensberg A, Moller K, Secher NH. Cerebral ammonia uptake and accumulation during prolonged exercise in humans. *The Journal of physiology*. 2005; 563(Pt 1):285-90.
41. Chang CK, Chang Chien KM, Chang JH, Huang MH, Liang YC, Liu TH. Branched-chain amino acids and arginine improve performance in two consecutive

days of simulated handball games in male and female athletes: a randomized trial. *PloS one*. 2015; 10(3):e0121866.

42. Wagenmakers AJ, Coakley JH, Edwards RH. Metabolism of branched-chain amino acids and ammonia during exercise: clues from McArdle's disease. *International journal of sports medicine*. 1990; 11 Suppl 2:S101-13.

43. Davis JM, Bailey SP. Possible mechanisms of central nervous system fatigue during exercise. *Medicine and science in sports and exercise*. 1997; 29(1):45-57.

44. Wilkinson DJ, Smeeton NJ, Watt PW. Ammonia metabolism, the brain and fatigue; revisiting the link. *Progress in neurobiology*. 2010; 91(3):200-19.

45. Kim DH, Kim SH, Jeong WS, Lee HY. Effect of BCAA intake during endurance exercises on fatigue substances, muscle damage substances, and energy metabolism substances. *Journal of exercise nutrition & biochemistry*. 2013; 17(4):169-80.

46. Cheng IS, Wang YW, Chen IF, Hsu GS, Hsueh CF, Chang CK. The Supplementation of Branched-Chain Amino Acids, Arginine, and Citrulline Improves Endurance Exercise Performance in Two Consecutive Days. *Journal of sports science & medicine*. 2016; 15(3):509-15.

47. Mikulski T, Dabrowski J, Hilgier W, Ziemia A, Krzeminski K. Effects of supplementation with branched chain amino acids and ornithine aspartate on plasma ammonia and central fatigue during exercise in healthy men. *Folia neuropathologica*. 2015; 4:377-86.

48. Blomstrand E, Hassmen P, Ekblom B, Newsholme EA. Administration of branched-chain amino acids during sustained exercise--effects on performance and on plasma concentration of some amino acids. *European journal of applied physiology and occupational physiology*. 1991; 63(2):83-8.

49. Knechtle B, Mrazek C, Wirth A, Knechtle P, Rust CA, Senn O, et al. Branched-chain amino acid supplementation during a 100-km ultra-marathon--a randomized controlled trial. *Journal of nutritional science and vitaminology*. 2012; 58(1):36-44.

50. Ermolao A, Zanutto T, Carraro N, Fornasier T, Zaccaria M, Neunhaeuserer D, et al. Repeated sprint ability is not enhanced by caffeine, arginine, and branched-chain amino acids in moderately trained soccer players. *Journal of exercise rehabilitation*. 2017; 13(1):55-61.

51. Watson P, Shirreffs SM, Maughan RJ. The effect of acute branched-chain amino acid supplementation on prolonged exercise capacity in a warm environment. *European journal of applied physiology*. 2004; 93(3):306-14.

52. Cheuvront SN, Carter R, 3rd, Kolka MA, Lieberman HR, Kellogg MD, Sawka MN. Branched-chain amino acid supplementation and human performance when hypohydrated in the heat. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985)*. 2004; 97(4):1275-82.

53. Greer BK, White JP, Arguello EM, Haymes EM. Branched-chain amino acid supplementation lowers perceived exertion but does not affect performance in untrained males. *Journal of strength and conditioning research*. 2011; 25(2):539-44.

54. Howatson G, van Someren KA. The prevention and treatment of exercise-induced muscle damage. *Sports medicine (Auckland, NZ)*. 2008; 38(6):483-503.
55. Sousa MT, Vítor H. ; Soares, José. Dietary strategies to recover from exercise-induced muscle damage. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2013; 65(2):151-63.
56. Ra SG, Miyazaki T, Ishikura K, Nagayama H, Komine S, Nakata Y, et al. Combined effect of branched-chain amino acids and taurine supplementation on delayed onset muscle soreness and muscle damage in high-intensity eccentric exercise. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. 2013; 10(1):51.
57. Mathur S, Sheel AW, Road JD, Reid WD. Delayed Onset Muscle Soreness After Inspiratory Threshold Loading in Healthy Adults. *Cardiopulmonary Physical Therapy Journal*. 2010; 21(1):5-12.
58. da Luz CR, Nicastro H, Zanchi NE, Chaves DF, Lancha AH, Jr. Potential therapeutic effects of branched-chain amino acids supplementation on resistance exercise-based muscle damage in humans. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. 2011; 8:23.
59. Tee JC, Bosch AN, Lambert MI. Metabolic consequences of exercise-induced muscle damage. *Sports medicine (Auckland, NZ)*. 2007; 37(10):827-36.
60. Beelen M, Burke LM, Gibala MJ, van Loon LJ. Nutritional strategies to promote postexercise recovery. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism*. 2010; 20(6):515-32.
61. Sharp CP, Pearson DR. Amino acid supplements and recovery from high-intensity resistance training. *Journal of strength and conditioning research*. 2010; 24(4):1125-30.
62. Nosaka K, Sacco P, Mawatari K. Effects of amino acid supplementation on muscle soreness and damage. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism*. 2006; 16(6):620-35.
63. Jackman SR, Witard OC, Jeukendrup AE, Tipton KD. Branched-chain amino acid ingestion can ameliorate soreness from eccentric exercise. *Medicine and science in sports and exercise*. 2010; 42(5):962-70.
64. Shimomura Y, Murakami T, Nakai N, Nagasaki M, Obayashi M, Li Z, et al. Suppression of glycogen consumption during acute exercise by dietary branched-chain amino acids in rats. *Journal of nutritional science and vitaminology*. 2000; 46(2):71-7.
65. Gee TI, Deniel S. Branched-chain aminoacid supplementation attenuates a decrease in power-producing ability following acute strength training. *The Journal of sports medicine and physical fitness*. 2016; 56(12):1511-17.
66. Waldron M, Whelan K, Jeffries O, Burt D, Howe L, Patterson SD. The effects of acute branched-chain amino acid supplementation on recovery from a single bout of hypertrophy exercise in resistance-trained athletes. *Applied physiology, nutrition,*

and metabolism = *Physiologie appliquee, nutrition et metabolisme*. 2017; 42(6):630-36.

67. Shimomura Y, Inaguma A, Watanabe S, Yamamoto Y, Muramatsu Y, Bajotto G, et al. Branched-chain amino acid supplementation before squat exercise and delayed-onset muscle soreness. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism*. 2010; 20(3):236-44.

68. Matsumoto K, Koba T, Hamada K, Sakurai M, Higuchi T, Miyata H. Branched-chain amino acid supplementation attenuates muscle soreness, muscle damage and inflammation during an intensive training program. *The Journal of sports medicine and physical fitness*. 2009; 49(4):424-31.

69. Shimomura Y, Yamamoto Y, Bajotto G, Sato J, Murakami T, Shimomura N, et al. Nutraceutical effects of branched-chain amino acids on skeletal muscle. *The Journal of nutrition*. 2006; 136(2):529s-32s.

70. Leahy DT, Pintau SJ. Branched-chain amino Acid plus glucose supplement reduces exercise-induced delayed onset muscle soreness in college-age females. *ISRN nutrition*. 2013; 2013:921972.

71. Kephart WC, Mumford PW, McCloskey AE, Holland AM, Shake JJ, Mobley CB, et al. Post-exercise branched chain amino acid supplementation does not affect recovery markers following three consecutive high intensity resistance training bouts compared to carbohydrate supplementation. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. 2016; 13:30.

72. Atherton PJ, Etheridge T, Watt PW, Wilkinson D, Selby A, Rankin D, et al. Muscle full effect after oral protein: time-dependent concordance and discordance between human muscle protein synthesis and mTORC1 signaling. *The American journal of clinical nutrition*. 2010; 92(5):1080-8.

73. Wilkes EA, Selby AL, Atherton PJ, Patel R, Rankin D, Smith K, et al. Blunting of insulin inhibition of proteolysis in legs of older subjects may contribute to age-related sarcopenia. *The American journal of clinical nutrition*. 2009; 90(5):1343-50.

74. Wilkinson DJ, Hossain T, Hill DS, Phillips BE, Crossland H, Williams J, et al. Effects of leucine and its metabolite beta-hydroxy-beta-methylbutyrate on human skeletal muscle protein metabolism. *The Journal of physiology*. 2013; 591(11):2911-23.

75. Ferrando AA, Williams BD, Stuart CA, Lane HW, Wolfe RR. Oral branched-chain amino acids decrease whole-body proteolysis. *JPEN Journal of parenteral and enteral nutrition*. 1995; 19(1):47-54.

76. Louard RJ, Barrett EJ, Gelfand RA. Effect of infused branched-chain amino acids on muscle and whole-body amino acid metabolism in man. *Clinical science (London, England : 1979)*. 1990; 79(5):457-66.

77. Kimball SR. Integration of signals generated by nutrients, hormones, and exercise in skeletal muscle. *The American journal of clinical nutrition*. 2014; 99(1):237s-42s.

78. Bennet WM, Connacher AA, Scrimgeour CM, Smith K, Rennie MJ. Increase in anterior tibialis muscle protein synthesis in healthy man during mixed amino acid

infusion: studies of incorporation of [1-13C]leucine. *Clinical science (London, England : 1979)*. 1989; 76(4):447-54.

79. Borsheim E, Tipton KD, Wolf SE, Wolfe RR. Essential amino acids and muscle protein recovery from resistance exercise. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2002; 283(4):E648-57.

80. Tipton KD, Ferrando AA, Phillips SM, Doyle D, Jr., Wolfe RR. Postexercise net protein synthesis in human muscle from orally administered amino acids. *The American journal of physiology*. 1999; 276(4 Pt 1):E628-34.

81. Moberg M, Apro W, Ohlsson I, Ponten M, Villanueva A, Ekblom B, et al. Absence of leucine in an essential amino acid supplement reduces activation of mTORC1 signalling following resistance exercise in young females. *Applied physiology, nutrition, and metabolism = Physiologie appliquee, nutrition et metabolisme*. 2014; 39(2):183-94.

82. Anthony JC, Anthony TG, Kimball SR, Jefferson LS. Signaling pathways involved in translational control of protein synthesis in skeletal muscle by leucine. *The Journal of nutrition*. 2001; 131(3):856s-60s.

83. Anthony JC, Yoshizawa F, Anthony TG, Vary TC, Jefferson LS, Kimball SR. Leucine stimulates translation initiation in skeletal muscle of postabsorptive rats via a rapamycin-sensitive pathway. *The Journal of nutrition*. 2000; 130(10):2413-9.

84. Atherton PJ, Smith K, Etheridge T, Rankin D, Rennie MJ. Distinct anabolic signalling responses to amino acids in C2C12 skeletal muscle cells. *Amino acids*. 2010; 38(5):1533-9.

85. Crozier SJ, Kimball SR, Emmert SW, Anthony JC, Jefferson LS. Oral leucine administration stimulates protein synthesis in rat skeletal muscle. *The Journal of nutrition*. 2005; 135(3):376-82.

86. Escobar J, Frank JW, Suryawan A, Nguyen HV, Kimball SR, Jefferson LS, et al. Physiological rise in plasma leucine stimulates muscle protein synthesis in neonatal pigs by enhancing translation initiation factor activation. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2005; 288(5):E914-21.

87. Greiwe JS, Kwon G, McDaniel ML, Semenkovich CF. Leucine and insulin activate p70 S6 kinase through different pathways in human skeletal muscle. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2001; 281(3):E466-71.

88. Smith K, Barua JM, Watt PW, Scrimgeour CM, Rennie MJ. Flooding with L-[1-13C]leucine stimulates human muscle protein incorporation of continuously infused L-[1-13C]valine. *The American journal of physiology*. 1992; 262(3 Pt 1):E372-6.

89. Apro W, Moberg M, Hamilton DL, Ekblom B, Rooyackers O, Holmberg HC, et al. Leucine does not affect mechanistic target of rapamycin complex 1 assembly but is required for maximal ribosomal protein s6 kinase 1 activity in human skeletal

muscle following resistance exercise. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2015; 29(10):4358-73.

90. Jackman SR, Witard OC, Philp A, Wallis GA, Baar K, Tipton KD. Branched-Chain Amino Acid Ingestion Stimulates Muscle Myofibrillar Protein Synthesis following Resistance Exercise in Humans [Original Research]. *Frontiers in Physiology*. 2017; 8(390)

91. Spillane M, Emerson C, Willoughby DS. The effects of 8 weeks of heavy resistance training and branched-chain amino acid supplementation on body composition and muscle performance. *Nutrition and health*. 2012; 21(4):263-73.

92. Witard OC, Jackman SR, Breen L, Smith K, Selby A, Tipton KD. Myofibrillar muscle protein synthesis rates subsequent to a meal in response to increasing doses of whey protein at rest and after resistance exercise. *The American journal of clinical nutrition*. 2014; 99(1):86-95.

93. Churchward-Venne TA, Breen L, Di Donato DM, Hector AJ, Mitchell CJ, Moore DR, et al. Leucine supplementation of a low-protein mixed macronutrient beverage enhances myofibrillar protein synthesis in young men: a double-blind, randomized trial. *The American journal of clinical nutrition*. 2014; 99(2):276-86.

94. Churchward-Venne TA, Burd NA, Mitchell CJ, West DW, Philp A, Marcotte GR, et al. Supplementation of a suboptimal protein dose with leucine or essential amino acids: effects on myofibrillar protein synthesis at rest and following resistance exercise in men. *The Journal of physiology*. 2012; 590(11):2751-65.

95. Pennings B, Koopman R, Beelen M, Senden JM, Saris WH, van Loon LJ. Exercising before protein intake allows for greater use of dietary protein-derived amino acids for de novo muscle protein synthesis in both young and elderly men. *The American journal of clinical nutrition*. 2011; 93(2):322-31.

96. Dennis EA, Dengo AL, Comber DL, Flack KD, Savla J, Davy KP, et al. Water consumption increases weight loss during a hypocaloric diet intervention in middle-aged and older adults. *Obesity (Silver Spring, Md)*. 2010; 18(2):300-7.

97. Dieter BP, Schoenfeld BJ, Aragon AA. The data do not seem to support a benefit to BCAA supplementation during periods of caloric restriction. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. 2016; 13:21.